Ein Beitrag zur Kenntnis der Cytologie von *Tuber aestivum* Vitt.

Von

Bruno Schussnig

(Mit 1 Tafel und 3 Textfiguren)

Vorgelegt in der Sitzung vom 12. Mai 1921

Im Nachlasse des im Jahre 1914 verstorbenen Botanikers J. Brunnthaler fand sich mit Flemming gut fixiertes Material von *Tuber aestivum*. Fräulein Stephanie Herzfeld hatte die Freundlichkeit, von demselben Mikrotomschnitte herzustellen, die ich Ende des Jahres 1915 zwecks Untersuchung übernahm. Ich mußte jedoch aus äußeren Gründen meine Untersuchung wiederholt unterbrechen, so daß ich erst in den letzten Monaten dazu kam, mich dieser Arbeit endgültig zu widmen. Trotz der vielen Mängel, die diesem zu ganz anderen Zwecken gesammelten Material anhaften, will ich nicht zögern, die erzielten Resultate zu veröffentlichen, da sie immerhin eine ganze Reihe von interessanten Tatsachen enthalten, aber auch aus dem Grunde, weil bei der derzeitigen enormen Teuerung aller notwendigen Laboratoriumsbehelfe an eine erschöpfende Bearbeitung dieser Pilzgruppe nicht gedacht werden kann. Die Bestimmung der Art verdanke ich Herrn Professor V. Schiffner, wofür ich ihm auch an dieser Stelle meinen Dank ausdrücke.

Über die Morphologie der Tuberaceen sind wir durch die mustergültigen Untersuchungen von Tulasne, Hesse, de Bary, Ed. Fischer und Bucholtz u. a. genau unterrichtet. Besonders die Arbeiten Ed. Fischers haben uns in äußerst überzeugender Weise über die entwicklungsgeschichtlichen und verwandtschaftlichen Verhältnisse dieser Pilzgruppe aufgeklärt. Dagegen konnte ich nirgends in der mir zugänglichen Literatur Angaben über die feineren Vorgänge, die sich vor und nach der Ascusbildung abspielen, finden, weshalb ich gerade auf diese Verhältnisse meine besondere Aufmerksamkeit lenkte. Über die dabei erzielten Untersuchungsergebnisse will ich im folgenden berichten.

Das Mycel des Fruchtkörpers in den sterilen Anteilen besteht aus kurzgegliederten, einkernigen Hyphen von durchschnittlich 2 μ Dicke. In den das Hymenium tragenden Innenbalken, den sogenannten »venae internae«, zeigt das Hyphengeflecht ein dichtes, plektenchymartiges Gefüge, was zur Folge hat, daß, besonders in dünnen Mikrotomschnitten, der Verlauf der einzelnen Hyphenzellen kaum oder überhaupt nicht zu verfolgen ist. Die Zwischenräume zwischen den Hymenialflächen, deskriptiv unter dem Namen der »venae externae« bekannt, werden von einem lockeren Geflecht von ganz unregelmäßig verlaufenden, vielfach verzweigten und miteinander anastomosierenden Hyphenzellen erfüllt, die in der Regel ebenfalls einkernig sind. Nur hie und da findet man auch zweikernige Zellen, eine Erscheinung, die wohl darauf zurückzuführen sein dürfte, daß sich die zwei Nuclei knapp nach der Karyokinese vor der Bildung einer trennenden Zellwand befinden. An den Stellen, wo ein Hyphenzweig dieses Geflechtes frei in den Raum der venae externae endet, kann die Endzelle eine Verdickung erfahren, wodurch dieselbe eine keulige Gestalt annimmt. Die Kerne der vegetativen Mycelzellen messen 1·6 μ im Durchmesser, sind stark chromatinhältig, wobei die Chromatinsubstanz in Form von mehr weniger großen Körnchen verteilt ist, und führen stets ein wenn auch nicht immer sehr deutlich sichtbares Binnenkörperchen, von dem später noch die Rede sein wird.

An der Peripherie der venae internae kommt die Hymenialschicht zur Ausdifferenzierung, ohne sich jedoch vom vegetativen Gewebe scharf abzuheben. In dieser liegen die Asci, entweder einzeln oder in Gruppen von zwei bis mehreren zusammen. Sie besitzen eine mehr weniger rundliche bis längliche Gestalt mit unregelmäßig verlaufenden Konturlinien und werden von einer relativ dicken Membran umhüllt. Die Membrandicke dürfte allerdings in dem von mir untersuchten Materiale infolge der Einwirkung der Härtungsreagentien eine Steigerung erfahren haben (vgl. Tafel, Fig. 8). Zwischen den Asci, also im Gewebe der Hymenium führenden Fruchtkörperlamellen, und zwar immer parallel mit der Hymenialschichte, wird das sterile Hyphengeflecht von weitlumigen, ungefähr zwei- bis dreimal so dicken Fäden durchzogen. Sie zeigen ebenfalls einen unregelmäßigen, hin- und hergewundenen Verlauf, weshalb es im Schnitt nicht möglich ist, sie in ihrer Kontinuität zu verfolgen. In der Nähe der Ascusregion werden diese Hyphen durch ihre reiche und dichte Verzweigung sowie durch ihre immer stärker werdende Tingierbarkeit ganz besonders auffallend, so daß der Gedanke nahe lag, daß es sich um Elemente mit besonderer Funktion handle. Die weiteren Untersuchungen ergaben, daß die genannten Fäden die ascogenen Hyphen sind, wodurch die Annahme Ed. Fischers und Bucholtzs eine Bestätigung findet.

Außer den ascogenen Hyphen findet man noch eine besondere Art von Hyphen, die infolge ihrer eigenartigen histologischen Differenzierung Erwähnung verdienen. Sie sind durch ihre intensive

Färbung ausgezeichnet, welche jedoch nicht etwa auf einer starken Aufspeicherung des Farbstoffes (Heidenhein'sches Eisenhämatoxylin) im Zellinhalt beruht, sondern der Farbstoff wird von einer besonderen Substanz festgehalten, mit welcher die Membran dieser Hyphenzellen inkrustiert ist. Die Dicke dieser Fäden ist gleich derjenigen der gewöhnlichen vegetativen Hyphen oder vielleicht um eine Spur größer, was auf die Inkrustation ihrer Membranen zurückzuführen ist. Offenbar handelt es sich um jene Hyphenelemente, wie sie Bucholtz auch bei *Tuber excavatum* Vitt. gesehen und als »Harzhyphen« bezeichnet hat. Allerdings ist die spezifische Funktion dieser Hyphen bis heute noch unbekannt.

Damit ist die histologische Differenzierung im Fruchtkörper von *Tuber aestivum*, soweit ich es beurteilen kann, erschöpft. Es wäre nur noch hinzuzufügen, daß gegen die Peripherie des Fruchtkörpers das vegetative Hyphengeflecht allmählich in eine breite, parenchymatische Rindenschicht übergeht, deren Zellelemente mit einer dicken, festen Membran von brauner Farbe versehen sind, eine Färbung, die selbst nach allen Prozeduren der Mikrotomtechnik erhalten bleibt und auch nicht durch den angewendeten Farbstoff verdeckt wird.

Das *Tuber*-Material, das mir zur Verfügung gestanden ist, war bereits erwachsen und im reifen Zustand, d. h. der Fruchtkörper hatte schon zahllose Asci der verschiedensten Größenordnung entwickelt und diese befanden sich wieder in verschiedenen Stadien der Ascosporenbildung. Ein Blick in ein Schnittpräparat zeigt daher sofort, daß der Prozeß der Ascus-, beziehungsweise Sporenbildung im Augenblick der Fixierung sich noch im Gange befand, so daß Aussicht bestand, wenigstens bis zu einem gewissen Grade die aufeinanderfolgenden Entwicklungsstadien feststellen zu können.

Ich richtete mein Hauptaugenmerk darauf, Organe zu finden, die als Oogonien und Antheridien hätten agnosziert werden können. Dies gelang mir aber trotz eifrigsten Suchens (es standen mir im ganzen acht Schnittserien zur Verfügung) nicht. Es ist denkbar, daß das von mir durchgesehene Material sich bereits in einem vorgeschrittenen Altersstadium befunden hat, zu einem Zeitpunkt fixiert worden ist, wo die Befruchtung schon vollzogen war und die Bildung der ascogenen Hyphen eingesetzt hatte. Mir scheint diese Annahme jedoch wenig wahrscheinlich, da die Hymenialzone, wie ich früher sagte, keinen fertigen Zustand aufwies. Es fanden sich vielmehr in derselben die verschiedensten Altersstufen der Ascusproduktion und da wir von anderen Ascomyceten her wissen, daß die Sexualorgane nicht weit von der Hymenialschicht angelegt werden, so wäre es durchaus gezwungen, bei dieser Ascomycetenform die Anlage der Geschlechtsorgane auf einen früheren Zeitpunkt

der ontogenetischen Entwicklung verlegen zu wollen. Ich glaube daher annehmen zu dürfen, daß bei dieser *Tuber*-Art die Sexualorgane in Verlust gegangen sind, ähnlich wie bei der von Carruthers untersuchten *Helvella crispa* Fries, eine Annahme, die gerade bei Berücksichtigung unserer Vorstellungen über die verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen Helvellineen und Tuberineen an Wahrscheinlichkeit gewinnt.

Die ascogenen Hyphen, die mithin einen Überrest des ursprünglich vorhanden gewesenen Sexualapparates darstellen, enthalten in ihrer an der Grenze der inneren Hymenialschicht gelegenen Endverzweigungen in jedem Gliede zwei Kerne. Wo und

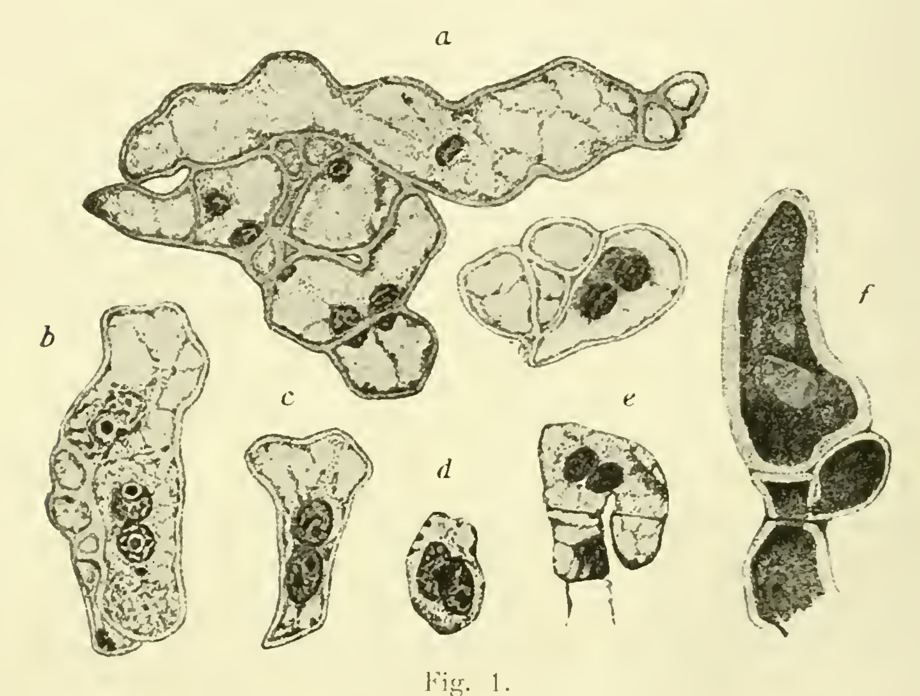


Fig. 1.

Sporogene Fäden und Hakenbildung

in welcher Weise die Doppelzahl der Kerne zustande kommt konnte ich nicht eruieren. In Fig. 1 *a* ist eine Gruppe von solchen ascogenen Hyphenzellen dargestellt. Man erkennt daran leicht den Größenunterschied gegenüber den vegetativen Mycelfäden, welche die Zwischenräume ausfüllen. Auch die Kerne zeigen noch dieselbe Größenanordnung wie im vegetativen Mycel, nur in der Teilfigur rechts unten erscheinen sie etwas vergrößert. In den folgenden Figuren 1 *b* bis 1 *d* allerdings bemerken wir schon eine bedeutende Größenzunahme der Kerne und gleichzeitig damit die allmähliche Annäherung der beiden Kerne aneinander. Fig. 1 *d* stellt ein Stadium unmittelbar vor der Verschmelzung dar.

Nach stattgefundener Kernverschmelzung wird aus der Zelle, in der sich die Karyogamie abgespielt hat, die Anlage des jungen Ascus. Offenbar kann hier jedes zweikernige Glied der ascogenen Hyphe zur Ascusanlage werden, und darin ist eine auffallende Abweichung von der Norm gegeben.

Nur höchst selten und nach langem Suchen ist es mir gelungen Stellen zu finden, die ich als die bekannten Hakenbildungen erkennen konnte, wovon die Figuren 1 *e* und 1 *f* eine Vorstellung geben mag. In 1 *e* ist das Ende einer ascogenen Hyphe gerade in dem Augenblicke wiedergegeben, wo sie umbiegt: im Bogenteil befinden sich zwei Kerne. Der Kern der Stielzelle ist undeutlich, der der Spitzenzelle aus dem Schnitt herausgefallen. In Fig. 1 *f* ist ein vorgeschritteneres Stadium der Hakenbildung abgebildet, an dem die heranwachsende Ascusanlage deutlich zu sehen ist, allerdings konnte ich die Kernverhältnisse infolge des äußerst dichten, stark gefärbten Inhaltes nicht wahrnehmen. Es scheint also bei dieser Form neben der apikalen Entstehungsweise der Asci auch eine interkalare Ausbildungsmöglichkeit der Sporenschläuche vorzukommen, letztere als akzessorischer, aber nach meinen Erfahrungen in diesem speziellen Fall prädominierender Entwicklungsmodus. Dies erscheint uns verständlich, wenn wir den anatomischen Aufbau eines *Tuber*-Fruchtkörpers betrachten und vor allem, wenn wir uns an den Modus der Sporenverbreitung bei den Hypogaeen erinnern. Die apikale Entstehungsweise der Asci bei den gymnokarpen Ascomyceten ist eine natürliche Folge der streng palissadenartigen Anordnung der Sporenschläuche im Hymenium, die wiederum den Sinn hat, dem Wind als Sporenverbreitungsmittel einen ungehinderten Zugang zu gewähren. Beim angiokarpen Bau des Tuberineenfruchtkörpers im reifen Zustand ist das nicht notwendig, weil der Wind als Transportfaktor überhaupt nicht in Betracht kommt. Deshalb, und wenn wir uns noch vergegenwärtigen, daß bei dem hier in Rede stehenden *Tuber aestivum* höchstwahrscheinlich die Ascogonien und Antheridien nicht mehr zur Ausbildung gelangen, scheint mir die interkalare Entstehungsweise der Asci eine sehr zweckmäßige Einrichtung zu sein, denn im Moment, in dem der Wind als Verbreitungsmittel wegfiel und die Sexualorgane rückgebildet wurden, war dem Pilz dadurch eine erhöhte Bildungsmöglichkeit der Asci gegeben. Bis zu einem gewissen Grade kann man sogar die interkalare Entstehungsweise der Asci als einen Ersatz für die in Verlust geratenen Sexualorgane auffassen.

Der junge Ascus wächst nach erfolgter Karyogamie sofort heran, nimmt eine mehr weniger kugelige bis ellipsoidische Gestalt an, wenn er nicht durch den Druck benachbarter Elemente gezwungen ist, seine Form der Umgebung in mehr minder weitem Maße anzupassen (Fig. 2, *a* und *b*). In diesem Stadium führt der Ascus einen Kern (*Synkaryon)*, den ich hier als »primären Ascuskern« bezeichnen will und der durch seine besondere Größe auffällt. Anfangs rund, nimmt er mit zunehmendem Wachstum des Ascus eine unregelmäßige Gestalt an, er treibt rundliche, pseudopodienartige Fortsätze aus und gleichzeitig spielen sich in ihm Veränderungen in der Anordnung der chromatischen Substanz ab, auf die ich weiter unten noch zu sprechen komme. Wenn der

Ascus eine gewisse Größe erreicht hat, findet eine Teilung des primären Ascuskernes statt, die das Entstehen von vier »sekundären Ascuskernen« zur Folge hat. Den Teilungsvorgang selber bekam ich nie zu Gesicht, wohl gelang es mir aber die vier jungen Tochterkerne, offenbar knapp nach ihrer Entstehung, zu finden (Tafel, Fig. 3). Im wesentlichen stimmen sie in der Gestalt mit den primären Ascuskernen überein, unterscheiden sich von den letzteren (von der Größe abgesehen) nur durch eine viel dichtere, gleichmäßigere Struktur und viel schärfer zugespitzte Pseudopodienfortsätze. Diese vier sekundären Sporenkerne liefern die Sporen, wobei allerdings hervorzuheben ist, daß nicht immer alle vier Sporen zur Reife kommen und daß der Reifungsprozeß der Sporen innerhalb eines Ascus in succedaner Reihenfolge erfolgt. Ist eine oder zwei Sporen im Wachstum den anderen Schwestersporen stark voran, dann können die in der Entwicklung zurückgebliebenen Sporenanlagen nicht mehr zur Vollreife gelangen, sie gehen langsam zugrunde, indem ihre Substanz vom Ascusplasma langsam resorbiert wird. Solche Stellen sind dann durch ihre besonders intensive Tingierbarkeit gekennzeichnet. Im jungen Ascus erfüllt das Protoplasma den ganzen Innenraum und zeigt eine sehr deutliche schaumige Struktur. Später, wenn die Sporen heranreifen, sammelt sich das Plasma vornehmlich um die Sporenanlagen und sendet von da aus mehr weniger dicke Stränge bis in den plasmatischen Wandbelag aus, wie dies aus den beigegebenen Figuren hervorgeht. Das Gefüge des Ascusplasmas ist körnig, was besonders deutlich in den protoplasmatischen Ansammlungen in der Nähe der Sporenanlagen zum Ausdruck kommt. Die Folge davon ist, daß sich der plasmatische Inhalt der unreifen Asci mit Hämatoxylin sehr stark mitfärbt.

Nach diesen kurzen allgemeinen Bemerkungen will ich mich dem eigentlichen Thema dieser Arbeit zuwenden, nämlich zur Besprechung jener Vorgänge, die sich an den Ascuskernen während der Sporenbildung abspielen. Ich bin gezwungen, etwas weiter auszuholen und in wenigen Worten die Hauptergebnisse der Protistenkernforschung zu resümieren, weil meine Resultate wesentliche Übereinstimmungen mit denen der Protistenforscher aufweisen. In einem kleinen, in den Berichten der Deutschen Botanischen Gesellschaft erschienenen Aufsatze habe ich bereits den Versuch gemacht, diese so überaus wichtigen Tatsachen den sonst ferner stehenden botanischen Kreisen bekannt zu geben. Mit dem Hinweis auf diese Veröffentlichung kann ich mich hier kurz fassen und will im folgenden nur so viel wiederholen, als zum Verständnis meiner Untersuchungsbefunde an *Tuber aestivum* unbedingt notwendig ist.

Die Forschungen auf dem Gebiete der Protistencytologie, hauptsächlich die von Schaudinn, Prowazek, Hartmann u. a. m., haben in den letzten zwei Dezennien gezeigt, daß zwischen der Konstitution des Zellkernes der Protisten und jener der höheren Organismen wesentliche Unterschiede bestehen. Hartmann machte im Jahre 1911 den Versuch, auf Grund eigener Untersuchungen und unter Heranziehung der bis dahin erschienenen Fachliteratur, eine Übersicht über dieses Gebiet zu geben und entwarf eine Art System der Protistenkerne, in dem er verschiedene Kerntypen unterscheidet, die einige wichtige Stufen der Zellkernentwicklung darstellen. Hartmann hat vor allem das Verdienst, eine gründliche Übersicht geschaffen zu haben und seine Arbeit bildet somit die Grundlage für spätere Forschungen, gleichgültig ob im einzelnen die Hartmann'schen Vorstellungen erschöpfend sind oder nicht. Später erschienene Arbeiten scheinen oft dem Hartmann'schen System zu widersprechen; ein endgültiges Urteil wird jedoch erst dann möglich sein, wenn die Protistencytologie auf breiter Grundlage und unter gleichzeitiger Heranziehung der niederen Pflanzen in Angriff genommen wird. Soviel bis heute bekannt ist, läßt sich eine große Anzahl von Kernen aus den verschiedensten Verwandtschaftskreisen der niedersten Tiere und Pflanzen in einen Typus vereinigen, der uns einen relativ ursprünglichen Eindruck macht und den wir mit Hartmann als den Typus der einwertigen Karyosomkerne oder der Monocaryen bezeichnen wollen. Sie sind dadurch ausgezeichnet, daß an ihnen im allgemeinen zwei Komponenten unterschieden werden können, eine »lokomotorische« und eine »idiochromatische«. Vielleicht sagen diese Ausdrücke zu viel; wir wollen festhalten, daß die Unterscheidung dieser beiden Komponenten vorerst eine topographische ist, womit gesagt sein soll, daß bei den Kernen der einfachsten Tiere und Pflanzen eine mehr weniger strenge örtliche Scheidung zwischen jenen Substanzen durchgeführt ist, welche bei der Kernteilung die trophischen Anteile der nächsten Kerngeneration liefern und jenen, die während der Karyokinese diejenigen Strukturen aufbauen, die uns bei morphologischer Betrachtung dieses Vorganges den Eindruck kinetischer Zentren machen. Es ist klar, daß wir bei Betrachtung solcher subtiler Vorgänge im allgemeinen zu einer anthropomorphistischen Deutung des Gesehenen verleitet werden; deshalb möge mir die etwas zurückhaltende Formulierung dieser Dinge gestattet sein. Unter diesem Vorbehalte ist die Anwendung der nun üblichen Nomenklatur, deren ich mich im folgenden natürlich bedienen werde, zu interpretieren. Auch die Bezeichnung »ursprünglicher Kerntypus« ist in der Weise zu verstehen, daß diejenigen Kerntypen, die wir zum Ausgangspunkt unserer Betrachtung wählen, fast durchwegs bei recht primitiv organisierten Lebewesen (hauptsächlich Flagellaten, Rhizopoden u. a.) vorkommen, wodurch die Vorstellung berechtigt erscheint, die Ursprünglichkeit dieser Organismen auch auf die Konstitution ihrer Kerne zu übertragen.

Die topographische Verteilung der beiden Kernkomponenten in einem Monokaryon kann nun recht verschieden sein, wodurch sowohl das Aussehen des Ruhekernes als auch die Gestalt der mitotischen Bilder sehr verschieden ausfallen wird. Im einfachsten Falle (besonders wenn es sich um sehr kleine, schwer in ihre Details auflösbare Kerne handelt) ist die Hauptmasse der Chromatinsubstanz in einem zentralen Körper, dem Karyosom, zentralisiert, um das herum eine helle, gegen das Cytoplasma abgegrenzte Zone sichtbar ist. Diese Zone ist sehr arm an tingierbaren Substanzen, sie umgibt daher das Karyosom wie ein Bläschen (man spricht daher auch von Bläschenkernen) und man bezeichnet sie als Außenkern, oder besser vielleicht als »Perikaryon«. Das Karyosom stellt keine einheitliche basophile Masse dar, sondern es konnte in sehr vielen Fällen, bei vorsichtiger färberischen Differenzierung der Präparate in seinem Zentrum noch ein Bestandteil aufgefunden werden, der als ein kugeliges Körnchen erscheint und als Centriol bezeichnet wurde.

Von physiognomischem Interesse sind jene Veränderungen, die sich an den einfachen Protistenkernen während ihrer vegetativen Phase abspielen und die darin bestehen, daß die im Karyosom ausschließlich oder vornehmlich zentralisierte chromatische Substanz entweder teilweise oder sogar gänzlich in das Perikaryon auswandern kann. Diese Vorgänge, die wohl zu den trophischen Funktionen des Kernes in irgendeiner, wenngleich einer genaueren Analyse schwer zugänglichen, Beziehung stehen dürften, kann man während der individuellen Entwicklung eines Protisten unschwer verfolgen, wobei noch darauf hingewiesen werden muß, daß die Wanderung der Chromatinsubstanz auch reversibel sein kann, d. h., es können die zu bestimmten Zeitpunkten im Außenkern dispergierten Chromatinpartikelchen wieder in das Karyosom zurückwandern. Man nennt diese Erscheinung »cyklische Metamorphose«. Auf diese Weise kommen während der Ontogenese eines bestimmten Organismus die verschiedensten Kernbilder zustande, die meiner Auffassung nach durch den Kernstoffwechsel induzierte physikalisch-chemische Zustandsphasen der beiden Kernkomponenten darstellen. Ähnliches hat sich im Laufe der phylogenetischen Entwicklung der verschiedenen Protistengruppen abgespielt und es ist daher natürlich, daß wir bei bestimmten systematischen Einheiten ganz spezifisch aussehende Monokaryentypen wiederfinden, die nichts anderes vorstellen als die früher erwähnten, erblich fixierten Zustandsphasen. Es entstehen somit Kerntypen, welche im ruhenden Zustand eine weitgehende histologische Ähnlichkeit mit den Zellkernen der Metazoen und Metaphyten aufweisen und die nur bei sehr genauer morphologischer, beziehungsweise morphogenetischer Analyse von diesen letzteren unterschieden werden können.

Die Morphogenese eines Kernes liefert uns das wichtigste Kriterium zur Entscheidung seiner Konstitution, und da sind in

erster Linie die Vorgänge während der Karyokinese zu erwähnen. Bei den einwertigen Karyosomkernen (Monokaryen) geht die Kernteilung in der Weise vor sich, daß die beiden in ihm enthaltenen Komponenten während des Teilungsvorganges so ineinander greifen, daß einerseits ihre histologische Autonomie gewahrt bleibt und anderseits die Zusammensetzung aus zwei Komponenten auch in die nächstjüngere Kerngeneration übergeht. Den Vorgang der Karyokinese scheint das Centriol einzuleiten, indem es sich auf dem Wege einer einfachen Durchschnürung in zwei Tochtercentriole teilt, wobei zwischen diesen zwei Hälften ein Gelfaden, eine sogenannte »Centrodesmose« ausgespannt wird. Gleichen Schritt damit hält das Karyosom, das sich in die Länge streckt und in der Mitte auseinandergezogen wird. Ist die gesamte Chromatinsubstanz im Karyosom lokalisiert gewesen, so kommt es zu einer wenig scharf differenzierten Spindel mit chromatischen Polkappen und einer Äquatorialplatte. Andernfalls wird die chromatische Kernfigur von dem im Außenkern befindlichen Chromatin geliefert, während Centriol und Karyosom bloß der Spindelbildung dienen. Natürlich liegen zwischen diesen beiden extremen Fällen allerhand Übergänge, bei denen eine scharfe topographische Grenze zwischen chromatischer und achromatischer Spindelsubstanz sich nicht ziehen läßt. Es soll noch erwähnt werden, daß es Fälle gibt, wo das Centriol allein als lokomotorische Komponente funktioniert, und daß seine Stellung sehr verschieden, entweder innerhalb oder außerhalb des Kernes sein kann. Immer wirken aber die beiden Komponenten, ohne Rücksicht ihrer topographischen Lokalisierung, bei der Karyokinese ineinander und auf diese Weise kommen mitotische Bilder zustande, die bei oberflächlicher Betrachtung von den entsprechenden Teilungsfiguren der Metazoen- und Metaphytenkerne nicht zu unterscheiden sind. Zweifellos handelt es sich jedoch um einen wesentlich verschiedenen Vorgang und wir bezeichnen denselben mit dem Namen »Promitose«. Zum Wesen der Promitose gehört ferner auch der Umstand, daß die Spindelfigur intranukleär entsteht, ausgenommen jene Fälle, in denen die lokomotorische Komponente aus dem Kern in das Cytoplasma übergewandert ist. (Aber auch hier nicht immer!)

Ich mußte diese Charakteristik der Monokaryen vorausschicken, um den zweiten wichtigen, von Hartmann aufgestellten Kerntypus zum besseren Verständnis bringen zu können. Es ist dies der Typus der sogenannten polyenergiden Kerne oder Polycaryen, mit denen ich mich in dieser Arbeit speziell befassen muß. Sie stellen sicherlich eine ebenso interessante als wichtige Stufe in der phylogenetischen Entwicklung des Zellkernes der Protisten im besonderen wie auch der Organismen überhaupt dar. Bei der Besprechung dieses Kerntypus will ich von einem von Jollos studierten und sehr übersichtlichen Fall ausgehen, den auch Hartmann in seiner oben erwähnten Abhandlung als Ausgangspunkt seiner Darlegungen gewählt hat und der sich auf die Kerne

einer Coccidie, *Adelea ovata*, bezieht. Ich lasse am besten die Worte Hartmann's selber folgen: »Die Kernteilung vollzieht sich bei der Zweiteilung in Form einer Promitose, die sich ganz am Karyosom abspielt, während der Außenkern vollkommen unbeteiligt bleibt. Mit dem Karyosom kann sich auch der ganze Kern teilen und dem kann, wie wir das sonst bei Zellen gewohnt sind, auch die Zellteilung unmittelbar folgen, was allerdings eine seltene Ausnahme ist. Gewöhnlich geht sogar die Teilung des ganzen Kernes nicht direkt Hand in Hand mit der Karyosomteilung, sondern vollzieht sich nachher und der Prozeß wiederholt sich, bis mehrere Kerne in der Zelle gebildet sind. Der weitere Fall ist der, daß im Innern der erhalten bleibenden Kernmembran das Karyosom sich nicht einmal, sondern mehrmals hintereinander promitotisch teilen kann und dieser Kern, der also schon mehrere Tochterkerne im Innern enthält, sich dann nach und nach in die Einzelkerne zerschnürt. Der letzte Modus schließlich vollzieht sich so, daß auch die Zerschnürung des ganzen Primärkernes unterbleibt. Die Kernmembran des Primärkernes wird einfach zum Schluß aufgelöst und die vorgebildeten Sekundärkerne zerstreuen sich hierauf im ganzen Plasma. Hier ist es wohl ohne weiteres klar, daß dieser letztgeschilderte Modus der Kernvermehrung sich von einer fortgesetzten Promitose des Kernes ableiten läßt, wobei einfach die Membran und die Höhle des Primärkernes erhalten bleibt, weil eben alle wichtige Substanz (die lokomotorische und idiochromatische Komponente) im Karyosom konzentriert ist und die Teilung somit nur an letzterem stattzufinden braucht. Ebenso sicher aber ist es, daß jeder durch primitive Mitose entstandene Tochterkern im Innern des Primärkernes als totipotenter Kern gelten muß. Der große Kern vor der multiplen Teilung ist somit unbedingt ein polyenergider Kern oder Polycaryon im eingangs erwähnten Sinne«.

Wenn aus dieser Beschreibung Form und Wesen eines polyenergiden Kernes ohne weiteres einleuchtet, so ist über die Bedeutung dieser Kerne noch nicht alles gesagt. Das Problem des Polycaryon besteht meines Erachtens darin, daß es eine höhere Organisation des betreffenden Organismus anzeigt, worauf ich übrigens schon in dem oben angeführten Aufsatze aufmerksam gemacht habe. Einige Beispiele mögen dies illustrieren. Die großen, mit einem mächtigen Kern versehenen Monocyttarien und Tripyleen (Radiolarien) sind nach Ansicht der Protozoologen von einer Kolonie der Polycyttarien abzuleiten. Wenn daher bei den ersteren zur Zeit der Gametenbildung der, wie Hartmann mit Recht annimmt, polyenergide Primärkern in eine große Anzahl von Sekundär(Gameten)kernen zerfällt, so ist dieser Vorgang phylogenetisch so zu erklären, daß im Kern dieser Radiolarien die ursprüngliche, von ihren Ausgangstypen übernommene Organisation festgehalten wird. In diesen Polycaryen finden wir also den letzten phylogenetischen Rest der früheren, jetzt schon erloschenen multicellulären Natur der Ausgangstypen; und daß dieses Organisations-

merkmal gerade bei der Bildung der Fortpflanzungsorgane in Erscheinung tritt, steht wohl mit der Vorstellung im Einklang, daß im Augenblicke der Fortpflanzung immer wieder phylogenetisch ältere Organisationsmerkmale auftauchen, wofür gerade im Pflanzenreiche zahllose Beispiele angeführt werden könnten. Mithin wird unsere Annahme von der Bedeutung der polyenergiden Kerne für die phylogenetische Beurteilung eines Organismus oder einer Organismengruppe vollauf bestätigt, wir wollen aber trotzdem an der Hand einiger weiterer Beispiele die Stichhältigkeit dieser These prüfen.

Bei den Trichonymphiden, einer eigenartigen Gruppe hochwertiger Flagellaten, die vor allem durch eine enorme Vermehrung der Geißeln und Geißelapparate ausgezeichnet ist, finden wir einerseits Typen mit zahlreichen Kernen, wobei jeder Kern mittels des Basalkornes mit je einer Geißel in Verbindung steht, anderseits aber auch solche Formen, bei denen die Zelle wohl polyciliat ist, jedoch bloß einen größeren Kern enthält. Dieser Kern ist nun, wie Hartmann nachgewiesen hat, polyenergid. Die polyenergide Natur desselben ist allerdings bloß während der karyokinetischen Vorgänge ersichtlich, beim Übergang in das Ruhestadium lösen sich die einzelnen Karyoenergiden auf und gehen in der Bildung des chromatischen Netzwerkes auf. Das Resultat davon ist ein Ruhekern vom Aussehen eines gewöhnlichen Metazoen- oder Metaphytenkernes, eine Erscheinung, die wir schon bei den Monokaryen gesehen haben und die in physikalisch-chemischen Prozessen eine Erklärung finden könnte in dem Sinne, daß durch den Zerfall der Chromatinsubstanz in zahllose kleinste Brocken die aktive Oberfläche derselben vergrößert, die Adsorptionsfähigkeit gesteigert wird u. dgl. m. Wir müssen unbedingt derlei Prozesse im Auge behalten, denn das uniforme Aussehen der Zellkerne im ruhenden Zustand, trotz aller konstitutionellen Verschiedenheiten, ist sicherlich kein Zufall. Dem Beispiel der Trichonymphiden ließe sich noch ein weiteres aus dem Pflanzenreich angliedern, wenn auch die Protophytencytologie noch lange nicht die Fortschritte aufzuweisen vermag, die in der modernen Protozoologie gemacht wurden. Bei der Gattung *Derbesia* findet bei der Zoosporenbildung aller Wahrscheinlichkeit nach eine Auswanderung kleiner Chromatinkörnchen aus dem Zoosporenkern in das Cytoplasma des Schwärmers statt, welche dann zu Basalkörnchen und schließlich durch Vereinigung zum Basalstab werden, dem der Geißelkranz dieser polyciliaten Schwärmzellen aufsitzt. Das ist meine Auffassung der leider etwas unzureichenden Befunde Davis'. In meinem Aufsatz über die Kerne der Protophyten habe ich mich über diesen Fall dahin geäußert, daß man die Zoosporenkerne von *Derbesia* als polyenergid auffassen kann, mit der Modifikation allerdings, daß die zahlreichen Karyoenergiden bis auf die Centriolen, die als Basalkörper bei der Ausbildung der Geißeln in Erscheinung treten, rückgebildet seien. Dies wäre ein ganz analoger Vorgang, wie er sich bei den

Monokaryen vollzieht, bei denen wir Fälle kennen, wo vom Karyosom nach Abgabe seiner Substanz an den Außenkern bloß das Centriol übrig bleibt. Und daß das Centriol und die Basalkörper der Geißeln in genetischer Beziehung stehen, darf wohl als bekannt angenommen werden. Nun kennen wir eine andere Gattung aus der Verwandtschaft der Siphoneen, und zwar *Vaucheria*, bei der ebenfalls polyciliate Schwärmsporen vorkommen, jedoch mit dem Unterschied, daß hier jedem Cilienpaar ein kleiner Kern entspricht. Vergleichen wir diese zwei Fälle mit den früher erwähnten Trichonymphiden, so finden wir einen weitgehenden Parallelismus.

Mit Absicht habe ich diesen Gegenstand etwas ausführlicher behandelt, um einerseits auf die Wichtigkeit der polyenergiden Kerne für die phylogenetische Protistologie hinzuweisen, anderseits aber auch, um darzutun, daß das Vorkommen von polyenergiden Kernen immer durch entwicklungsgeschichtliche oder entwicklungsmechanische Belege sozusagen legitimiert sein muß. Gerade aus diesem letzten Grunde scheinen mir meine Befunde an den Ascuskernen von *Tuber aestivum* von einigem Interesse zu sein, weshalb ich jetzt zur Besprechung dieses Falles übergehen will.

In Fig. 2 *a* ist ein junger Ascus mit einem großen, runden Kern abgebildet. In diesem letzteren unterscheiden wir zunächst einen rundlichen, dunkel gefärbten Binnenkörper, der sich vom übrigen Kern durch eine helle Zone abhebt. Zwischen Binnenkörper und dem Rest des Kernes (wir können vorausgreifend den ersteren als Karyosom, den letzteren als Perikaryon bezeichnen) ist die Kernsubstanz ebenfalls dunkel gefärbt, sie zeigt eine dichte, granulierte Struktur und in ihr sind zahlreiche Chromatinpartikelchen konzentrisch um den Binnenkörper herum angeordnet. Diese abgerundete Gestalt des primären Ascuskernes ist eine relativ seltene Erscheinungsform und wird nur in sehr jungen Ascusschläuchen angetroffen. Sobald der Ascus älter wird und an Größe zunimmt, wobei sein protoplasmatischer Inhalt immer grobkörniger und stärker tingierbar wird, ändert sich das Bild des Kernes, er nimmt eine unregelmäßige, mehr minder gelappte bis amöboïde Gestalt an (vgl. Fig. 2, *b*, *c*, *d*, *f*, *g*). In solchen gelappten Kernen kann man auch sehr deutlich die cyklischen Metamorphosen verfolgen, die sich während dieser Entwicklungsperiode in ihnen abspielen. Aus Fig. 2 *d* kann man mit größter Deutlichkeit ersehen, daß sich um das Karyosom herum zwei Substanzzonen herausdifferenziert haben, die nicht nur durch ihr verschiedenes Aussehen und durch ihre verschiedene Tingierbarkeit sondern auch durch einen Kranz von kleinen, stark gefärbten Chromatinkörnchen voneinander abgegrenzt erscheinen. Es findet offenbar eine Stoffwanderung vom Karyosom als physiologischem Zentrum in den Außenkern statt, was auch daraus zu ersehen ist, daß die Substanz des Binnenkörpers weniger dicht und etwas durchscheinend geworden ist. Diesem letzteren Umstande ist es nun zu verdanken, daß wir in diesem Stadium in der Mitte des Karyosoms ein

deutliches Centriol wahrnehmen können, wodurch also die Karyosomnatur dieses Binnenkörperchens erwiesen ist (vgl. Fig. 2, *b*, *d*, *g*). In der Fig. 2 (*b*, *c*, *e*, *f*, *g*) sind verschiedene Zustandsphasen der Cyklomorphosen wiedergegeben, wobei zunächst auf die Teilfiguren *c* und *f* hingewiesen werden soll, die den Beginn des cyklischen Abbaues illustrieren. Das Karyosom ist noch durchaus dicht und undurchsichtig und im Außenkern befinden sich bloß einzelne größere Körnchen in regelloser Verteilung. In *b* und *g* ist die Auswanderung der chromatischen Substanz stärker vorgeschritten, wir finden letztere hauptsächlich an der Peripherie des Außen-

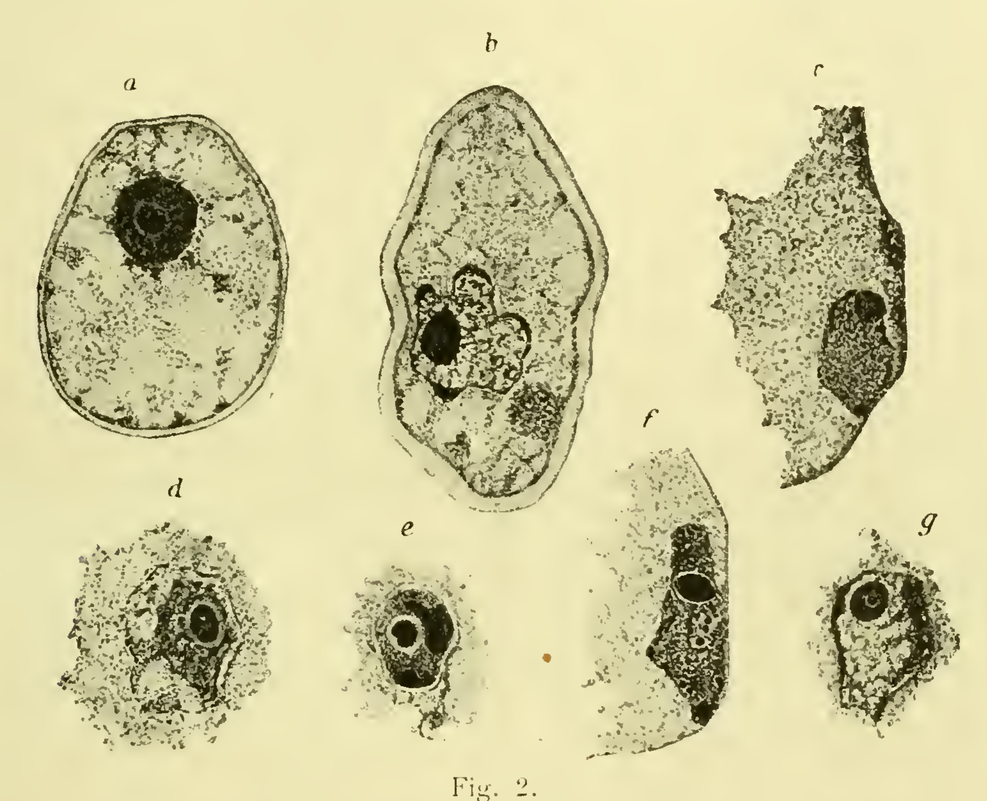


Fig. 2.

Junge Asci und primäre Ascuskerne.

kernes verdichtet, wo sie, wie z. B. in Fig. *b*, als dunkel gefärbte Kappen der pseudopodienartigen Fortsätze des Außenkernes erscheint. In beiden Figuren (*b* und *g*) ist das Centriol sehr deutlich sichtbar. Manchmal, wie in der Fig. 2 *e*, ist die Chromatinsubstanz schollenartig ausdifferenziert.

Alle diese Veränderungen müssen wir als den sichtbaren Ausdruck eines regen Stoffwechsels im primären Ascuskern auffassen, die schließlich zu einer günstigen Verteilung der idiochromatischen Substanzen innerhalb des Außenkernes führen. Nach Abschluß aller dieser cyklischen Phänomene findet eine Teilung des primären Ascuskernes statt, die die Bildung von vier sekundären Ascuskernen zur Folge hat. In Analogie zu den übrigen bisher bekannt gewordenen Fällen dürfte es sich auch hier um eine Reduktionsteilung handeln. Diese vier sekundären

Ascuskerne stimmen, was die äußere Gestalt, die feinere Struktur und ihre Konstitution betrifft, durchaus mit den primären Ascuskernen, aus denen sie durch Teilung hervorgingen, überein. Man kann an ihnen ein mit Centriol versehenes Karyosom und einen Außenkern von wechselnder Gestalt unterscheiden; der einzige äußerliche Unterschied gegenüber dem Mutterkern besteht darin, daß die pseudopodienartigen Fortsätze des Außenkernes viel feiner und spitziger auslaufen, und daß diese Kerne kleiner sind. Außerdem ist die Struktur weniger deutlich. Dieses Vierkernstadium (vgl. Taf., Fig. 3) habe ich während meiner Untersuchung bloß ein einziges Mal zu Gesicht bekommen, was offenbar dafür zu sprechen scheint, daß sich die Teilung des primären Ascuskernes außerordentlich rasch abspielt. Es ist dies eine empfindliche Lücke in meinen Befunden, weil im Hinblick auf das spätere, gleich zu erörternde Verhalten der sekundären Kerne, eine genaue Kenntnis des Teilungsmodus des primären Ascuskernes von größtem Interesse sein dürfte.

Ist das Vierkernstadium im Ascus erreicht, so wachsen die Kerne allmählich heran, jedoch nicht alle zu gleicher Zeit. Es bestehen fast immer Größenunterschiede zwischen den vier Kernen, die wohl so zu erklären sind, daß ein Kern im Größenwachstum den anderen drei stark vorauseilt und die übrigen drei immer in einem gewissen Zeitabstand nachkommen. Mit zunehmender Größe verlieren die sekundären Ascuskerne nach und nach ihre unregelmäßige, amöboide Gestalt, die sie noch im auf der Tafel, Fig. 3, abgebildeten Zustand besaßen und runden sich immer mehr ab. Der kugelige Umriß bleibt allerdings nicht lange erhalten, denn alsbald sehen wir, daß die Kerne eine im optischen Durchschnitt mehr weniger polygonal erscheinende Gestalt annehmen, wovon die Fig. 7 der Tafel, z. B. eine recht gute Vorstellung zu geben vermag.

Verfolgen wir nun die weiteren Veränderungen in den sekundären Ascuskernen. Zunächst teilt sich das Karyosom zweimal rasch hintereinander, wodurch vier Tochterkaryosomen entstehen, welche anfangs noch gepaart nebeneinander liegen (Tafel, Fig. 2, links oben). Später rücken die vier Tochterkaryosomen auseinander und diese teilen sich noch einmal. Es entstehen somit vier Paarlinge, wobei die Paarlingshälften in der Regel nicht gleich groß sind (Tafel, Fig. 2, rechts oben und Fig. 7, rechts unten). Die Fig. 4 der Tafel gibt ein Detailbild dieses zweiten Teilungsvorganges wieder. Wir sehen, daß sich das Centriol in der weiter oben beschriebenen Weise teilt, wobei zwischen den zwei Centriolhälften eine Centrodesmose ausgespannt wird. Darauf findet die Durchschnürung des Karyosoms selbst statt und wir sehen schließlich die zwei Karyosomhälften mit ihren Centriolen dicht nebeneinander liegen (das oberste Paar in Fig. 4 der Tafel). Die Deutlichkeit dieser Vorgänge hängt einerseits vom Zustand des Materials, anderseits vom Differenzierungsgrad beim Färben ab,

was zur Folge hat, daß ich nicht in allen Abbildungen die genaueren Details zur Darstellung bringen konnte. Aus dem Vergleich zahlloser Stadien geht jedoch der eine wichtige Umstand hervor, daß in allen Generationen der Karyosome stets ein Centriol vorhanden ist, wie dies auch das spätere Verhalten dieser Karyoenergiden zeigen wird.

Während oder knapp nach dieser letzten Teilung des Karyosoms zeigen, wie schon erwähnt, die daraus hervorgegangenen Tochterhälften eine verschiedene Größe. Aber nicht nur in der Größe, sondern auch in ihrem späteren Verhalten unterscheiden sich diese beiden Tochterhälften wesentlich voneinander. Und zwar können zwei Fälle eintreten. In dem ersten bleibt die eine, größere Karyosomhälfte unverändert und behält ihre runde Gestalt bei, während gleichzeitig die kleinere Hälfte aufgelockert wird. Sie geht offenbar in einen flüssigeren Zustand über, wie das bei Biokolloïden oft zu beobachten ist und umfließt förmlich die benachbarte, unverändert gebliebene Karyosomhälfte, so daß letztere in die Gelmasse der ersteren exzentrisch zu liegen kommt (Tafel, Fig. 2, Mitte, Fig. 7, links unten, Fig. 1). Es differenzieren sich also auf diese Weise innerhalb eines jeden sekundären Ascuskernes vier kleinere Kerne heraus, und zwar so, daß die eine Karyosomhälfte den Außenkern für die in Ruhe verharrende andere Karyosomhälfte liefert. Daß dem so ist, geht auch deutlich aus dem Umstande hervor, daß man in dem neu entstandenen Außenkern noch das in der metamorphosierten Karyosomhälfte ursprünglich enthaltene Centriol regelmäßig nachweisen kann (Tafel, Fig. 1, 2, 7). Es ist ohne weiteres klar, daß wir in diesen sekundären Ascuskernen polyenergide Kerne, im oben erwähnten Sinne, vor uns haben, welche durch komplizierte Umwandlungen ihrer Karyoenergiden schließlich vier individualisierte Kerne in ihrem Innern erzeugen, die, wie wir weiter unten sehen werden, zu Sporenkernen werden. Vorher wollen wir noch den zweiten Fall der Kernbildung innerhalb eines Synkaryons ins Auge fassen. Es kommt nämlich vor, daß die Ausdifferenzierung der Sporenkerne nicht immer in der soeben geschilderten Weise vollzogen wird. Nicht selten kann man beobachten, daß nach der zweiten Karyosomteilung die größere Karyosomhälfte (die, wie wir sahen, im ersten Falle unverändert bleibt) nicht von der den Außenkern liefernden anderen Hälfte eingeschlossen wird, sondern sich von dieser entfernt (Tafel, Fig. 7, rechts unten) und schließlich entweder von der Substanz des Mutterkernes resorbiert oder aus demselben in das Ascusplasma ausgestoßen wird[1]. Es entsteht somit aus der einen (kleineren) Karyosomhälfte ein kleiner Kern von feinkörniger

[1] Solche ausgestoßene Karyoenergidenhälften gehen in der Regel im Ascusplasma langsam durch Resorption zugrunde und können lange Zeit in demselben nachgewiesen werden (Tafel, Fig. 1 und 4). Sie können aber auch, allerdings nur ausnahmsweise, abortive Kerne im Cytoplasma liefern, wie in Fig. 2 der Tafel zu sehen ist.

Struktur, der in der Mitte bloß das Centriol birgt, welches wir beim ersten Kerntypus im Außenkern gefunden hatten (Tafel, Fig. 6 und 7). Innerhalb eines Polykaryons (sekundären Ascuskernes) können die darin enthaltenen Sporenkerne entweder alle nach dem ersten Typus gebaut sein, oder es kommen beide Typen nebeneinander vor (Tafel, Fig. 6, 7).

Dieses letztere Verhalten scheint mir nicht ohne Interesse zu sein, weshalb einige wenige Worte darüber vielleicht am Platze sein dürften. Auf Grund unserer bisherigen cytologischen Erfahrungen wissen wir, daß sich die Kerne der männlichen Sexualzellen durch eine besonders kräftig entwickelte idiogenerative Komponente auszeichnen, bei schwacher Ausbildung des trophischen Kernanteiles (Außenkern), während in den weiblichen Geschlechtszellen (Gameten, Eizellen etc.) gerade das Umgekehrte der Fall ist, d. h. Reduktion des lokomotorischen Anteils und dafür kräftige Entfaltung der idiochromatischen Komponente. In den oben besprochenen zwei Kerntypen hätten wir es im wesentlichen mit einem ganz ähnlichen Vorgang zu tun. Es wäre daher denkbar, daß in den Sporenanlagen von *Tuber aestivum* eine geschlechtliche Differenzierung der Kerne durchgeführt ist, was mit dem weiter oben angenommenen Verlust der Sexualorgane in Zusammenhang gebracht werden könnte. Ich erinnere bei dieser Gelegenheit an das von Burgeff aufgedeckte Verhalten der + und — Mycelien von *Phycomyces*. Bei *Tuber aestivum* enthalten die Sporen vier Kerne und wenn diese geschlechtlich differenziert sind, so ist die Spore in der Lage, ein Mycel zu erzeugen, welches in seinen Zellen sowohl + als auch — Anlagen (Kerne) führt; bei einer entsprechenden Verteilung dieser Kerne in den späteren Zellgenerationen (der Hymenialschichte) wäre es dann leichter verständlich, daß trotz des Fehlens von Ascogonien und Antheridien ein Vorgang sich abspielt, der im Wesen einem Sexualakt gleichkommt (Karyogamie in den ascogenen Hyphen). Ich will mich darüber nicht ausführlicher äußern; jedenfalls ist es nicht ganz zwecklos, auf diese Vorgänge aufmerksam zu machen, weil sie möglicherweise für spätere Untersuchungen als Richtlinien dienen könnten. Ich brauche ja nur an die überaus wertvollen Tatsachen, mit denen uns Kniep bei den Basidiomyceten bekannt gemacht hat, zu erinnern.

Und nun wollen wir uns der Entwicklung der Ascosporen zuwenden. Die Sporen gehen aus den sekundären Ascuskernen, in denen bereits die vier Sporenkerne, wie ich oben schilderte, ausdifferenziert wurden, hervor. Die Matrix des Polykaryons liefert also das Material für die Spore. Wenn die französische Schule unter Carnoy bei der Beobachtung von Spirogyra-Kernen den Satz aufstellen konnte: der sogenannte Nukleolus (nach unserem

jetzigen Vorstellungen das Karyosom) sei ein Kern im Kern, so kann man in unserem Falle sagen: das Polykaryon ist eine Zelle in der Zelle (Ascus). Ich konnte für diesen Vorgang alle Übergänge nachweisen, von denen einige markantere Stadien auf der Tafel wiedergegeben sind. Wir sehen zunächst die Substanz des Polykaryons an Tingierbarkeit zunehmen, unter gleichzeitiger Vakuolisierung des Inhaltes, was zur Folge hat, daß die junge Sporenanlage weitmaschig mit breiten schollenartigen Netzbalken erscheint (vgl. Tafel, Fig. 8). Diese netzig oder maschig angeordnete, stark basophile Substanz verdichtet sich hauptsächlich an der Oberfläche der Sporenanlage, und man kann dann in den helleren Innenraum derselben hineinsehen (Tafel, Fig. 8 und 5). Die Oberfläche der jungen Spore wird weiterhin facettiert, die Umrißlinie im optischen Durchschnitt daher polygonal. Zur selben Zeit bildet sich eine zarte epiplasmatische Hülle um das ganze Gebilde: die Anlage der Sporenmembran. Das Plasma des Ascus verdichtet sich um die im Wachstum begriffenen Sporenanlagen herum und man kann sehr deutlich verfolgen, wie aus dem Epiplasma nach und nach die für diese *Tuber*-Art charakteristischen Sporenmembranskulpturen zur Ausscheidung gelangen (Tafel, Fig. 5). Zuerst werden die stachelartigen Fortsätze ausdifferenziert, welche auf den vorspringenden Ecken der Sporenoberfläche aufsitzen, und nach und nach werden ganz zarte, anfangs kaum sichtbare Lamellen zwischen diesen ausgespannt, bis die für den fertigen Zustand so überaus charakteristische Leistenskulptur der Spore erreicht ist (Tafel, Fig. 4, 5, 8; Textfig. 3).



Fig. 3.
Reife Spore im optischen Längsschnitt mit den vier Sporenkernen.

Die reife Spore besitzt eine gelb bis gelbbraun gefärbte Membran, ihr Inhalt ist stark aufgehellt, ein Zeichen, daß die in den Sporenanlagen an der Oberfläche verdichtete Substanz wohl auch am Aufbau der Membran teilgenommen hat. Sie enhält vier Kerne. In diesen sind auffallende Veränderungen vor sich gegangen. Wir finden zentral oder etwas gegen die Peripherie zu verschoben ein rundes, stark färbbares Körnchen, welches von einer hellen, als Ring erscheinenden Zone umgeben ist. Aus einem Vergleich mit den jungen Sporenkernen in der Sporenanlage ergibt sich ohne weiteres, daß dieses Körnchen das Centriol des ruhenden Karyosoms ist. Daß die Substanz des Karyosoms in der Ontogenese eines Kernes mannigfache Modifikationen erfährt, ja sogar bis auf das Centriol abgebaut werden kann, ist eine Erscheinung, die, wie weiter oben gesagt wurde, gar nicht selten ist. Genau so wie im Cytoplasma der Spore während ihrer Reifung so weitgehende Veränderungen sich abgespielt haben, scheint es auch

in den Kernen zu einer wesentlichen Modifizierung in der Verteilung der beiden wichtigen Komponenten gekommen zu sein (vgl. Fig. 3). Der Außenkern der Sporenkerne in der reifen Spore ist auch bedeutend dunkler gefärbt als in den jüngeren Stadien, was zugunsten meiner Annahme spricht. Außerdem finden wir aber auch noch im Perikaryon ein zweites kleines Körnchen, welches bedeutend kleiner ist als das früher besprochene und sich auch nicht so scharf von seiner Umgebung abhebt. Es ist dies das Centriol der zweiten Karyoenergidenhälfte, jener, die wie ich weiter oben auseinandergesetzt habe, den Außenkern des jungen Sporenkernes geliefert hatte. In der in Fig. 3 wiedergegebenen Spore enthalten alle vier Kerne das Nebencentriol. Das muß jedoch, nach obigen Erläuterungen, nicht immer sein, wovon ich mich wiederholt überzeugen konnte.

Die Kerne des vegetativen Mycels stimmen im Bau und in der Zusammensetzung vollkommen mit denen der reifen Spore überein. Wir müssen daher annehmen, daß in den ascogenen Hyphen die Kerne irgendwelche Veränderungen durchmachen, die hauptsächlich darin bestehen, daß die Karyosomsubstanz regeneriert wird, oder besser gesagt, aus dem Perikaryon um das Centriol herum verdichtet wird. Wissen wir doch, daß die zyklischen Metamorphosen in den Protistenkernen reversible Vorgänge sind, ein Umstand, der sehr gut mit unseren modernen Erfahrungen auf dem Gebiete der Kolloïdchemie übereinstimmt.

Zum Schlusse möge noch die Frage in Erwägung gezogen werden, ob für die Existenz von polyenergiden Kernen in diesem speziellen Falle irgendwelche entwicklungsmechanische oder phylogenetische Gründe verantwortlich gemacht werden können, denn ich sagte ja weiter oben, daß dies eine conditio sine qua non für die richtige Beurteilung solcher Kernformen beinhalte. In diesem Falle ist man denn auch tatsächlich in der Lage, derartige Gründe anzuführen. Ich erinnere zunächst daran, daß die weitaus häufigste Sporenzahl in den Schläuchen der Ascomyceten acht oder sechzehn beträgt, und dies gilt auch von den mit den Tuberineen nächstverwandten Formentypen. Das Auftreten von 4 Sporen bei der Gattung *Tuber* muß daher als eine Reduktion gedeutet werden. Nun haben wir aber gesehen, daß aus dem primären Ascuskern (höchstwahrscheinlich durch Reduktionsteilung) 4 sekundäre Ascuskerne entstehen. Bis daher stimmt das Verhalten der Ascuskerne bei *Tuber* mit den übrigen Ascomyceten überein. Bei diesen letzteren ist es nun üblich, daß diese 4 haploïden Kerne sich entweder noch einmal, wodurch 8 Kerne, oder zweimal teilen, wodurch 16 Ascuskerne, die zu Sporenkernen werden, entstehen. Bei *Tuber aestivum* unterbleiben diese vegetativen Kernteilungen im Ascus, die vier sekundären Ascuskerne vermehren ihre Karyoenergiden und aus diesen gehen, wie oben geschildert, 4 Sporenkerne hervor, die jedoch innerhalb des polyenergiden sekundären Ascuskernes zur Ausdifferenzierung gelangen. Multipliziert man die

Zahl der sekundären Ascuskerne mit der Zahl der in ihnen entstandenen Sporenkerne, d. h. also 4×4, so erhalten wir die Zahl 16. Es entspricht somit eine Spore von *Tuber aestivum* einem Aggregate von 4 Ascosporen eines normalen Ascomyceten, was in der Vierzahl der enthaltenen Kerne und in dem ganzen Entwicklungsvorgang deutlich zum Ausdruck kommt. Die polyenergiden Kerne erscheinen uns also in diesem Falle tatsächlich verständlich, denn sie stellen sozusagen ein Exponent für einen Entwicklungsprozeß dar, den wir phylogenetisch ohne weiters erklären können. Aus diesem Grunde erschien mir die Veröffentlichung meiner Befunde an *Tuber aestivum* von Interesse, wenn auch, wie ich gleich vorausgeschickt habe, die Kenntnis noch einiger Details von großem Vorteil wäre.

Literaturverzeichnis.

Buchholtz F., Zur Entwicklungsgeschichte der Tuberaceen. Ber. d. Deutsch. bot. Gesellsch., *15.* 1897.

— Beiträge zur Morphologie und Systematik der Hypogaeen. 1902.

— Zur Morphologie und Systematik der *Fungi hypogaei.* Annales mycologici, *1.* 1903.

— Zur Entwicklung der *Choiromyces*-Fruchtkörper. Annales Mycologici, *6.* 1908.

— Zur Entwicklungsgeschichte des Balsamiaceen-Fruchtkörpers, nebst Bemerkungen zur Verwandtschaft der Tuberineen. Annales Mycologici, *8.* 1910.

Fischer Ed., *Tuberaceae,* in Rabenhorst Kryptogamenflora. 1896.

— *Tuberineae,* in Engler-Prantl, Natürliche Pflanzenfamilien. 1896.

— Über den Parallelismus der Tuberaceen und Gastromyceten. Ber. d. Deutsch. bot. Gesellsch., *14.* 1896.

— Die Fruchtkörperentwicklung der Tuberaceen und Gastromyceten. Bot. Zeitung. II. Abt. 1903.

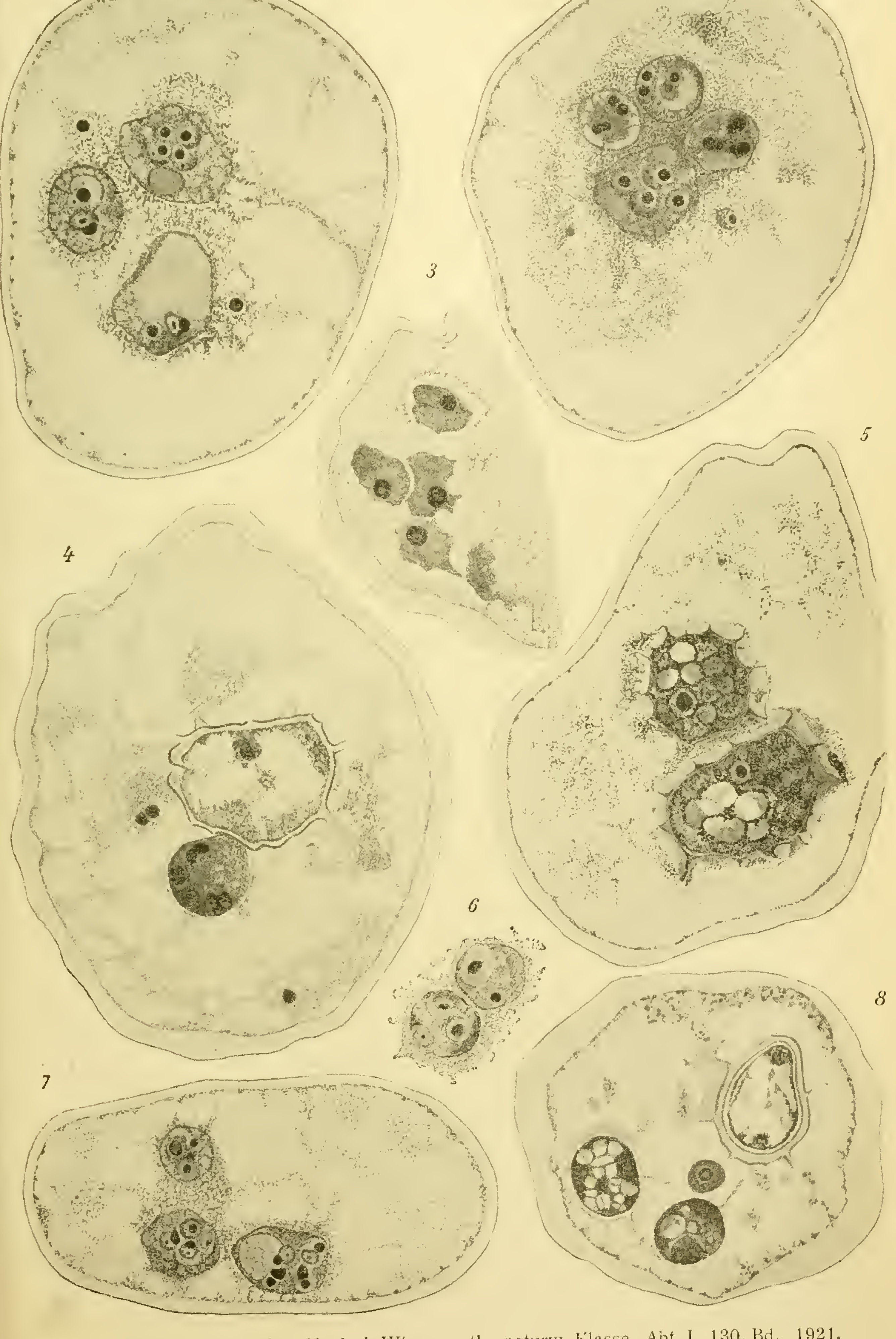
— Zur Morphologie der Hypogaeen. Bot. Zeitung, *26.* 1908.

Hartmann M., Die Konstitution der Protistenkerne und ihre Bedeutung für die Zellenlehre. Jena, 1911.

Lotsy J., Vorträge über botanische Stammesgeschichte. Jena, 1907.

Schussnig B., Der Zellkern der Protophyten. Ber. d. Deutsch. bot. Gesellsch. 1920.

Wettstein R., Handbuch der systematischen Botanik. Wien. 1911.


1
2
3
4
5
6
7
8